

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-124427

(43)Date of publication of application : 13.05.1997

(51)Int.Cl.

A01N 63/02  
A01G 7/00  
// C12N 1/20  
(C12N 1/20  
C12R 1:38 )

(21)Application number : 07-281000

(71)Applicant : NORIN SUISANSYO CHUGOKU  
NOGYO SHIKENJO

(22)Date of filing : 27.10.1995

(72)Inventor : TSUNODA YOSHINORI  
TAKAYA SHIGEO  
ISHII KIYOKO  
OUCHI AKIRA  
NISHIYAMA KOJI

## (54) CONTROL AGENT FOR RICE PLANT DAMPING-OFF USING NEW MICROORGANISMIC STRAIN AND METHOD FOR CONTROLLING THE SAME

## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a control agent for rice plant damping-off containing microorganism *Pseudomonas* sp.SOLUTION: This control agent for rice plant damping-off contains *Pseudomonas* sp. (CAB-02 strain) as an effective component. To control damping-off of rice plant seedlings, the bacterial strain is added to a dipping solution of rice seeds during rice seed dipping, or rice seeds after dipping are dipped in a suspension of the bacteria before seeding. The amount of bacteria in the dipping solution or the suspension is  $\geq 10^7$  bacterial cells/ml. In case of using in a preparation by adding or suspending, the bacteria concentration is  $10^7$ – $10^{10}$  cells/ml. This control agent exhibits a strong onset-suppressing action on 3 important diseases consisting of seed and seedling rot caused by rice grain rot bacteria, damping-off and useless unproductive growth induced by *Gibberella fujikuroi* of rice plant and is capable of controlling these 3 diseases at the same time and has no environmental pollution by the agrochemical. This control agent has a reducing action of rice grain rot bacteria on rice plants when sprayed on growing rice and a biological control can be carried out by suppressing the bacterial density of this disease in a paddy field having no resistant varieties and no specific agents.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

04.06.1996

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

2884487

[Date of registration]

12.02.1999

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-124427

(43) 公開日 平成9年(1997)5月13日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 0 1 N 63/02			A 0 1 N 63/02	F
A 0 1 G 7/00	6 0 5		A 0 1 G 7/00	6 0 5 Z
// C 1 2 N 1/20			C 1 2 N 1/20	E
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:38)				

審査請求 有 請求項の数 6 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号	特願平7-281000	(71) 出願人	593026649 農林水産省中国農業試験場長 広島県福山市西深津町六丁目12番1号
(22) 出願日	平成7年(1995)10月27日	(72) 発明者	角田 佳則 広島県福山市西深津町6丁目11番1-302号
		(72) 発明者	高屋 茂雄 広島県福山市西深津町6丁目11番3-302号
		(72) 発明者	石井 清子 広島県福山市柳津町西新浜2271番地37号
		(74) 代理人	弁理士 平木 祐輔 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 新規微生物菌株を用いたイネ苗の立枯性病害防除剤及び防除方法

(57) 【要約】

【解決手段】 シュードモナス・エスピー(Pseudomonas sp.) CAB-02を有効成分として含有することを特徴とする、イネ苗の立枯性病害防除剤。該病害防除剤を、浸種時の種粒の浸漬液に添加することを特徴とするイネ苗の立枯性病害防除方法、又は該病害防除剤を含む懸濁液に、浸種後の種粒を播種直前に浸漬することを特徴とするイネ苗の立枯性病害防除方法、又は該病害防除剤を、生育期のイネに散布することを特徴とする、もみ枯及びイネ苗の立枯性病害防除方法。イネ苗の立枯性病害防除能を有する、シュードモナス・エスピー(Pseudomonas sp.) CAB-02。

【効果】 本発明のイネ立枯病防除剤は、イネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症、イネ苗立枯細菌病およびイネばか苗病の3重要病害に対して発病を強く抑制する作用があり、現在これらの病害を対象として使用されている農薬と比べ同等以上の防除効果が期待できる。また、種粒浸種時の1回の処理で上記3病害の同時防除が可能であり、現行のように数種類の薬剤を混用して使用する必要がなく、農薬による環境汚染の心配がなくなる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 シュードモナス・エスピー(Pseudomonas sp.) CAB-02を有効成分として含有することを特徴とする、イネ苗の立枯性病害防除剤。

【請求項2】 イネ苗の立枯性病害が、イネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症、イネ苗立枯細菌病、イネばか苗病から成る群から選ばれた病害であることを特徴とする、請求項1に記載のイネ苗の立枯性病害防除剤。

【請求項3】 請求項1又は2記載のイネ苗の立枯性病害防除剤を、浸種時の種初め浸漬液に添加することを特徴とする、イネ苗の立枯性病害防除方法。

【請求項4】 請求項1又は2記載のイネ苗の立枯性病害防除剤を含む懸濁液に、浸種後の種初め播種直前に浸漬することを特徴とする、イネ苗の立枯性病害防除方法。

【請求項5】 請求項1又は2記載のイネ苗の立枯性病害防除剤を、生育期のイネに散布することを特徴とする、もみ枯及びイネ苗の立枯性病害防除方法。

【請求項6】 イネ苗の立枯性病害防除能を有する、シュードモナス・エスピー(Pseudomonas sp.) CAB-02。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、イネ苗の立枯性病害に対する防除能を有する新規微生物菌株、及びそれを用いたイネ苗の立枯性病害防除剤及び病害防除方法に関する。

## 【0002】

【従来の技術】イネ苗の立枯性病害である、イネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症、イネ苗立枯細菌病、イネばか苗病はいずれもイネの育苗時に発生する種子伝染性の病害である。特に加温箱育苗時において、前2者は幼苗の腐敗と萎凋枯死を、ばか苗病は幼苗腐敗や徒長苗を生じ、これらの病害が発生した苗は移植不能となり廃棄する他ない。幼苗腐敗等の被害が発生しない場合でも、保菌した苗を本田に移植すれば、もみ枯細菌病についてはもみ枯症発生の原因となり、ばか苗病については不稔や枯死株発生の原因となる。苗立枯細菌病の本田での被害は解明されていないが、いずれにしてもこのようなイネから収穫した種子は保菌しているため、次年度の病害発生の伝染源となる。これらの3病害はいずれも例年全国各地で発生し、多くの被害をもたらしており、水稻栽培上の重要病害として位置づけられている。しかしながら、これらの病害に対して抵抗性のあるイネ品種は存在しない。イネばか苗病では数種の有効な種子消毒薬剤が実用に供せられているものの、薬剤耐性菌の問題がある。また、イネもみ枯細菌病とイネ苗立枯細菌病では未だ安定して高い効果を示す薬剤が見出されていない。さらに近年、種子消毒剤の廃液が環境汚染源として、その処理が問題となっている。そのため、これらの病害の防除にあたっては、防除効果が高く、水質汚濁性の少ない

防除資材の開発が不可欠である。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明の課題は、イネ苗の立枯性病害であるイネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症、イネ苗立枯細菌病、イネばか苗病に対して優れた防除効果を発揮し得、かつ環境の汚染もないイネ苗の立枯性病害の防除する手段を提供することにある。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記の課題を解決するため鋭意研究を重ねた結果、上記イネ苗の立枯性病害の防除に優れた効果を発揮しうるシュードモナス属に属する新規な微生物菌株を見だし、本発明を完成した。

【0005】即ち、本発明は、シュードモナス・エスピー(Pseudomonas sp.) CAB-02を有効成分として含有することを特徴とする、イネ苗の立枯性病害防除剤である。本発明はまた、上記のイネ苗の立枯性病害防除剤を、浸種時の種初め浸漬液に添加することを特徴とするイネ苗の立枯性病害防除方法、又は上記のイネ苗の立枯性病害防除剤を含む懸濁液に、浸種後の種初め播種直前に浸漬することを特徴とするイネ苗の立枯性病害防除方法、又は上記のイネ苗の立枯性病害防除剤を、生育期のイネに散布することを特徴とする、イネ苗のもみ枯及び立枯性病害防除方法である。更に、本発明は、イネ苗の立枯性病害防除能を有する、シュードモナス・エスピー(Pseudomonas sp.) CAB-02である。以下、本発明を詳細に説明する。

## 【0006】

【発明の実施の態様】本発明に用いる微生物は、イネ苗の立枯性病害防除能を有するシュードモナス・エスピー(Pseudomonas sp.) CAB-02 (以下、CAB-02菌株という) である。

【0007】CAB-02菌株は、広島県福山市、中国農業試験場圃場内のイネから分離・収集した約700菌株の細菌について、イネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症を指標とした生物検定を行い、発病抑制力の強い細菌を選抜した結果得られたものである。

【0008】CAB-02菌株は、形態を光学顕微鏡又は電子顕微鏡で観察した結果、細胞の大きさは1~4 μmの桿菌で、細胞の多形性はなく、数本以上の極鞭毛を有し、運動性を有するという特徴を示した。また、グラム反応は陰性で、内生孢子を形成せず、PHB顆粒を蓄積しなかった。その他の細菌学的性質については、次に示すとおりである。

## 【0009】1. 培養的性質

CAB-02菌株の各種培地における生育状態は次の通りである。観察は28℃、3日培養後に行った。

## ① 肉汁寒天平板培養

集落の性状は、白色、円形、全縁丘状、表面平滑で、湿光を有し、バター質である。水溶性の色素は産生しな

い。

## ② 肉汁液体培養

培地は、全面濁り、白色の皮膜を形成する。

### 【0010】2. 生理・生化学的性質

#### ① 一般的性質

酸素との関係 好気性

非水溶性色素の産生 -

黄緑色蛍光色素の産生 -

ピオシアニンの産生 -

ゼラチンの液化 -

カタラーゼ活性 +

オキシダーゼ活性 +

ウレアーゼ活性 +

硝酸塩の還元 +

硝酸呼吸能 -

レバンの産生 -

デンプンの加水分解 -

クエン酸の利用 +

乳酸の利用 +

グルコン酸の酸化 -

エクスリンの加水分解 -

アルギニンの加水分解 -

pH3.5での生育 -

生長素要求性 なし

生育速度 速い

ジャガイモ塊茎の腐敗 -

【0011】② グルコースの分解様式（ヒューライフ  
ソン(Hugh-Laifson)法による、30℃、7日間）

条 件 生 育 酸の生成

嫌気的条件 - -

好気的条件 + +

【0012】③ 生育温度（肉汁液体培地、7日間）

温 度 生 育

4℃ -

10℃ +

15℃ +

20℃ +

25℃ +

30℃ +

40℃ +

41℃ +

42℃ +

【0013】④ 耐食塩性

濃 度 生 育

1% +

2% +

3% +

4% -

5% -

【0014】⑤ 各種炭素源の利用性

グルコース +

フルクトース +

キシロース +

L-アラビノース +

ガラクトース +

マンノース +

10 ラムノース -

D-リボース +

スクロース +

マルトース +

ラクトース +

トレハロース +

D-マンニトール +

D-ソルビトール +

イノシトール +

エリトリトール -

20 ガラクチトール +

アドニトール -

エタノール -

2,3-ブチレングリコール +

プロピレングリコール -

グリセロール -

ベタイン +

β-アラニン +

L-アルギニン +

L-バリン +

30 トリプタミン塩酸塩 -

L-酒石酸 +

D-酒石酸 +

m-酒石酸 +

マロン酸 +

メサコン酸 +

シトラコン酸 +

レブリン酸 +

安息香酸 -

ヒドロキシ安息香酸 +

40 プロピオン酸 -

n-酪酸 -

グリコール酸 +

d1-リンゴ酸 +

n-カプリン酸 +

アジピン酸 +

【0015】以上の細菌学的性質のうち、(1)グラム陰性の桿菌である、(2)オキシダーゼ活性が陽性である、(3)極鞭毛を有し活発に運動する、(4)好気性である、(5)酸化的にのみグルコースを分解する、(6)内生孢子の形成が認められない等の特徴から、CAB-02菌株はPseudo

monas属に属すると判断される。また、前記の諸性質をもとに「Bergey's Manual of Determinative Bacteriology」第9版により検索した結果、現在記載されているPseudomonas属細菌の中にはCAB-02菌株と類似の性質を持つ種は認められなかった。したがって、本発明者らはCAB-02菌株をPseudomonas sp. CAB-02と命名し、工業技術院生命工学工業技術研究所にFERM P-15237号として寄託した。

【0016】CAB-02菌株の培養には、特別な方法を用いる必要はなく、シュードモナス属に属する公知の菌株と同様の方法を用いることができる。培地としては、生育可能な炭素源、窒素源、無機物及び必要な生育促進物質を適当に含有する培地であれば、合成培地、天然培地のいずれも用いることができる。具体的な培地を例示すると、普通寒天培地、キングB培地、PSA（ジャガイモ・ショ糖・寒天）培地、PDA（ジャガイモ・デキストロース・寒天）培地、PPGA（ジャガイモ・ペプトン・グルコース・寒天）培地、YMA（イースト・マルトース・寒天）培地、YPGA（イースト・ペプトン・グルコース・寒天）培地等を挙げることができる。培養に際しては、温度を15～42℃、好ましくは28～30℃、pHを6.0～7.5、好ましくは6.8～7.0に維持することが望ましい。

【0017】一般に、イネ種初は、播種前に冷水または温湯からなる浸漬液に48～96時間程度浸漬すること（これを浸種いう）により種初に水分を吸収させ、酵素活性を高め催芽をはかることで播種後の出芽を容易にする。

【0018】本発明の菌株を用いたイネ苗の立枯性病害防除方法は、本菌株菌体を浸種時の種初の浸漬液に添加するか、又は浸種後の種初を播種直前に本菌株菌体の懸濁液中に浸漬することにより行う。また、イネもみ枯細菌病に対しては生育期のイネに本菌株菌体を散布してもよい。

【0019】本発明の菌株を上記の防除方法に使用する場合、上記浸漬液又は懸濁液中に、菌体として $10^7$ 個/ml以上、好ましくは $10^8$ 個/ml以上添加又は懸濁するのが適当である。また、上記浸漬液又は懸濁液中での種初の処理条件は、浸漬液へ浸漬する場合は15～35℃、好ましくは20～30℃にて48～96時間、好ましくは48～72時間、懸濁液へ浸漬する場合は、15～35℃、好ましくは20～30℃にて瞬時～24時間、好ましくは1～24時間が例示される。

【0020】本発明の病害防除剤は、微生物をそのまま使用してもよいが、一般には農薬に使用可能な固体担体又は液体担体と混合して、液剤、カプセル剤、凍結乾燥アンプル剤などの製剤形態に調製して使用される。微生物としては、通常は菌体を用い、菌体の濃度は、液剤であれば $10^7$ ～ $10^{10}$ 個/ml、好ましくは $10^8$ ～ $10^9$

\*<sup>9</sup> 個/mlとするの適当である。

【0021】本発明の防除対象となる病害としては、イネ苗の立枯性病害である、イネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症、イネ苗立枯細菌病、イネばか苗病等を挙げることができる。

【0022】

【実施例】以下に本発明の実施例、試験例、製剤例を示し、さらに具体的に説明するが、本発明はこれらに何ら限定されるものではない。

〔実施例〕 CAB-02菌株の選抜

広島県福山市、中国農業試験場圃場内のイネから分離・収集した約700菌株の細菌について、イネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症を指標とした生物検定を行い、発病抑制力の強い細菌を選抜した。具体的には、圃場から採取したイネおよび初を滅菌水中で洗浄し、その洗液を寒天平板上で培養して出現した細菌の集落を単離して保存し、供試細菌とした。 $10^5$ cfu/mlのイネもみ枯細菌病菌と $10^8$ cfu/mlの供試細菌との混合細菌液に健全な種初を浸漬後播種し、6日後に発病調査を行ったところ、苗腐敗症の発生を抑制する細菌株がいくつか認められた。中でも著しく強い抑制力を発揮したCAB-02菌株を選抜した。

【0023】〔試験例1〕 イネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症に対する発病抑制効果（病原細菌液を用いた種初接種による試験）

(1)試験方法

CAB-02菌株とイネもみ枯細菌病菌(MAFF 301441)を供試した。濃度を $10^5$ cfu/mlに調整した病原細菌液に、CAB-02菌株を濃度が $10^8$ cfu/mlになるように添加して混合細菌液とし、その中で健全種初（品種金南風）を10℃で3日間浸種した後播種する区（①区）およびあらかじめ同一条件で浸種した種初を播種直前に約1時間混合細菌液の中に浸漬して播種する区（②区）を設けた。また、それぞれの対照として病原細菌のみを $10^5$ cfu/mlに調整した菌液で処理する区を設けた。育苗は32℃の温室で行い、6日後から苗腐敗症の発病程度を調査した。試験には直径3cmの容器を用い、1区20粒播種×3ポットとし、6回反復した。

【0024】(2)試験結果

病原細菌液のみを処理した区では本病が激発し、発病苗率100%、発病度は99以上であった。CAB-02菌株を添加した混合細菌液を処理した区では全く発病が認められず、本菌株の添加により高い発病抑制効果が認められた（表1参照）。また、CAB-02菌株を添加した区の苗の生育は正常であり、本菌株の添加による悪影響は認められなかった。

【0025】

【表1】

イネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症に対する発病抑制効果

(病原細菌液を用いた種初接種による試験)

処 理	発病苗率 (%)	発病度 <sup>1)</sup>	防除価 <sup>2)</sup>
(①区) 3日間浸漬			
病原細菌+CAB-02菌株	0	0	100
病原細菌のみ	100	99.4	
(②区) 播種直前1時間浸漬			
病原細菌+CAB-02菌株	0	0	100
病原細菌のみ	100	99	

<sup>1)</sup> 発病度 =  $((4A+3B+2C+D)/(4 \times \text{調査苗数})) \times 100$ 

[A: 草丈3cm以内・腐敗が2/3以上に及ぶ発病苗, B: 草丈3cm 以内・腐敗が2/3未満の発病苗, C: 草丈3.1 ~ 5.0cmの発病苗, D: 草丈5.1cm以上の発病苗]

<sup>2)</sup> 防除価 =  $((A-B)/A) \times 100$  [A: 病原細菌のみ処理した区の発病度, B: 混合細菌液を処理した区の発病度]

【0026】〔試験例2〕 イネもみ枯細菌病菌による  
苗腐敗症に対する発病抑制効果 (自然感染初を用いた試験)

## (1) 試験方法

イネもみ枯細菌病菌の自然感染初 (品種金南風、保菌率約20%) を供試し、濃度が $10^5$  cfu/mlのCAB-02菌株の細菌液中で10℃ 3日間浸漬した後播種する区 (①区)、およびあらかじめ浸種・吸水させた種初を播種直前に約1時間細菌液中に浸漬して播種する区 (②区) を設けた。また、それぞれの対照としてCAB-02菌株を添加しない区を設けた。育苗は32℃の温室で行い、6日後から苗腐敗症の発病程度を調査した。試験には11×16cmの容器を用\*30

イネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症に対する発病抑制効果  
(自然感染初を用いた試験)

処 理	発病苗率 (%)	発病度 <sup>1)</sup>	防除価 <sup>2)</sup>
(①区) 3日間浸種			
CAB-02菌株液	0	0	100
対照 (水)	84.3	27.7	
(②区) 播種直前1時間浸種			
CAB-02菌株液	0.7	0.2	99.6
対照 (水)	86.3	53.6	

<sup>1)</sup> 発病度の計算方法は表1に同じ<sup>2)</sup> 防除価 =  $((A-B)/A) \times 100$  [A: 無処理区の発病度, B: CAB-02処理区の発病度]

【0029】〔試験例3〕 イネ苗立枯細菌病菌に対する  
発病抑制効果

## (1) 試験方法

イネ苗立枯細菌病菌 (MAFF 301723) の濃度を $10^5$  cfu/mlに

\*い、1区当たり約750粒播種、3反復とした。

## 【0027】(2) 試験結果

対照区では発病苗率で84.3~86.3%、発病度で27.7~53.6の多発条件下であったが、CAB-02菌株を添加した場合には、3日間浸漬では発病苗率0、播種直前の1時間浸漬でもほとんど発病は認められず、自然感染初に対しても高い発病抑制効果のあることが確認された (表2参照)。また、CAB-02菌株を添加した区の苗の生育は正常であり、悪影響は認められなかった。

【0028】

【表2】

調整した病原細菌液に、CAB-02菌株を濃度が $10^8$  cfu/mlになるように添加して混合細菌液とし、これにあらかじめ10℃ 3日間浸漬した健全種初 (品種金南風) を播種直前に約1時間浸漬して播種した。対照として病原細菌の

みを $10^5$  cfu/mlに調整した菌液に浸漬して播種する区を設けた。育苗は32℃の温室で行い、6日後から発病程度を調査した。試験には11×16cmの容器を用い、1区当り約750粒播種、6反復とした。

#### 【0030】(2)試験結果

病原細菌液のみに浸漬した初では本病が激発し、発病苗率100%、発病度99以上であった。CAB-02菌株を添加すると全く発病が認められず、高い発病抑制効果が認められた(表3参照)。また、CAB-02菌株を添加しても苗の生育は正常であり、悪影響は認められなかった。

#### 【0031】

#### 【表3】

#### イネ苗立枯細菌病に対する発病抑制効果

処 理	発病苗率 (%)	発病度 <sup>1)</sup>	防除価 <sup>2)</sup>
病原細菌+CAB-02菌株	0	0	100
病原細菌のみ	100	99.3	

<sup>1)</sup> 発病度の計算方法は表1に同じ

<sup>2)</sup> 防除価 $=((A-B)/A) \times 100$  [A:病原細菌のみ処理区の \*

イネばか苗病に対する発病抑制効果

処 理	徒長苗率 (%)	腐敗枯死苗率 (%)	発病苗率 <sup>1)</sup> (%)	防除価 <sup>2)</sup>	
				徒長苗	発病苗
CAB-02菌株液	1.1	4.2	5.3	98.4	94.3
対照(水)	67.4	25.6	93.0		

<sup>1)</sup> 発病苗率=徒長苗率+腐敗枯死苗率

<sup>2)</sup> 防除価 $=((A-B)/A) \times 100$  [A:対照区の発病度, B:CAB-02処理区の発病度]

【0035】〔試験例5〕 生育期のイネ葉鞘内におけるイネもみ枯細菌病菌増殖抑制効果

#### (1)試験方法

CAB-02菌株とイネもみ枯細菌病菌(MAFF 301441)を供試した。CAB-02菌株と病原細菌の濃度をそれぞれ $10^6$  cfu/mlに調整した混合細菌液を、生育期のイネの葉鞘内に注入接種し、1～3週間後における病原細菌検出率を、葉鞘内側を脱脂綿でこすり取り、選択培地上に画線培養する方法(脱脂綿こすり取り法)により調査した。試験は年次を変え2回反復した。

#### 【0036】(2)試験結果

CAB-02菌株を同時接種した葉鞘におけるイネもみ枯細菌病菌の検出程度

反復	処 理	接種後の病原細菌の 検出程度(%)
7 <sup>1)</sup>		14 21

\* 発病度, B:CAB-02菌株処理区の発病度]

【0032】〔試験例4〕 イネばか苗病に対する発病抑制効果

#### (1)試験方法

イネばか苗病の自然感染初(品種吉備の華、発病茎のベノミル耐性菌株率約11%)を供試し、濃度が $10^8$  cfu/mlのCAB-02菌株の細菌液中で10℃3日間浸種した後播種した。また、対照としてCAB-02菌株を添加しない区を設けた。育苗は32℃の温室で6日間、その後ガラス室で約2週間管理し、発病状況を調査した。試験には11×16cmの容器を用い、1区当り約750粒播種、3反復とした。

#### 【0033】(2)試験結果

対照区の徒長苗率は67.4%、腐敗枯死を含めた発病苗率では93.0%と本病が多発した。CAB-02菌株の菌液に処理した初は、徒長苗率1.1%、発病苗率5.3%と著しく発病率が減少し、本菌株はイネばか苗病に対しても高い発病抑制効果のあることが確認された(表4参照)。また、CAB-02菌株を添加した区の苗の生育は正常であり、悪影響は認められなかった。

#### 【0034】

#### 【表4】

20

※生育期のイネ葉鞘内に病原細菌液のみを接種した場合には、2～3週間後でも高率に病原細菌が検出された。これに対し、CAB-02菌株を同時接種すると、試験により差はあるものの、時間の経過とともに病原菌の検出率が低下する傾向が認められた(表5参照)。このことから、生育期にCAB-02菌株を接種することにより、本田のイネ体上での病原菌密度を制御し、本田に発生するもみ枯及びその初を種子とした場合に発生する立枯性病害を防除することが可能と考えられた。

#### 【0037】

#### 【表5】

※



I	病原細菌+CAB-02菌株	0	0	—
	病原細菌	100	100	—
II	病原細菌+CAB-02菌株	100	—	60
	病原細菌	70	—	90

<sup>n</sup> 接種後日数

【0038】〔製剤例1〕 液剤

CAB-02菌株の菌体  $10^{14}$  個、Tween 20 (2 g) を滅菌水 10L に加えて混合し、液剤を調製した。

【0039】〔製剤例2〕 カプセル剤

アルギン酸ナトリウム0.7%、カオリン5%、グリセリン15%、水79.3% 混合液 1ml 中に、CAB-02 菌株の菌体  $10^{10}$  個を懸濁し、0.2 モル酢酸カルシウム溶液中に滴下してカプセル状生成物を得た。これを風乾し、カプセル剤を調製した。

【0040】〔製剤例3〕 凍結乾燥アンブル剤

スキムミルク9%、グルタミン酸ナトリウム1.3%、水89.7% 混合液 1ml 中に、CAB-02 菌株の菌体  $10^{10}$  個を懸濁し、ガラス容器に入れて真空凍結乾燥後溶封し、凍結乾燥アンブル剤を調製した。

\* 【0041】

【発明の効果】本発明のイネ立枯病防除剤は、イネもみ枯細菌病菌による苗腐敗症、イネ苗立枯細菌病およびイネばか苗病の3重要病害に対して発病を強く抑制する作用があり、現在これらの病害を対象として使用されている農薬と比べ同等以上の防除効果が期待できる。また、種初浸種時の1回の処理で上記3病害の同時防除が可能であり、現行のように数種類の薬剤を混用して使用する必要がなく、農薬による環境汚染の心配がなくなる。また、本発明のイネ立枯病防除剤を生育期のイネに散布すれば、葉鞘内生育期に処理すれば、イネ体上（葉鞘内）のイネもみ枯細菌病菌の密度を低下させる作用を有しており、抵抗性品種や特効的薬剤のない本病の病原菌密度を本田で制御する生物的防除の可能性を提供する。

【手続補正書】

【提出日】平成7年10月31日

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正内容】

【0005】即ち、本発明は、シュードモナス・エスピー (Pseudomonas sp.) CAB-02を有効成分として含有することを特徴とする、イネ苗の立枯性病害防除剤である。本発明はまた、上記のイネ苗の立枯性病害防除剤を、浸種時の種初浸漬液に添加することを特徴とするイネ苗の立枯性病害防除方法、又は上記のイネ苗の立枯性病害防除剤を含む懸濁液に、浸種後の種初を播種直前に浸漬することを特徴とするイネ苗の立枯性病害防除方法、又は上記のイネ苗の立枯性病害防除剤を、生育期のイネに※

※散布することを特徴とする、もみ枯及びイネ苗の立枯性病害防除方法である。更に、本発明は、イネ苗の立枯性病害防除能を有する、シュードモナス・エスピー (Pseudomonas sp.) CAB-02 である。以下、本発明を詳細に説明する。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0017

【補正方法】変更

【補正内容】

【0017】一般に、イネ種初は、播種前に冷水または温湯からなる浸漬液に48～96時間程度浸漬すること（これを浸種という）により種初に水分を吸収させ、酵素活性を高め催芽をはかることで播種後の出芽を容易にする。

フロントページの続き

(72)発明者 大内 昭

茨城県つくば市並木2丁目14番301-1004号

(72)発明者 西山 幸司

茨城県土浦市右初2340番51号